

**XXVII Congresso Italiano della
Fibrosi Cistica**

**XVII Congresso Nazionale della
Società Italiana per lo studio
della Fibrosi Cistica**



Gestione genetica e clinica delle diagnosi inconclusive allo screening neonatale

Dr Vito Terlizzi

Centro Regionale Toscano per la cura della Fibrosi Cistica

AOU Meyer, Firenze

CRMS/CFSPID: definizione

**SCREENING NEONATALE POSITIVO +
TEST DEL SUDORE < 30 mEq/L +
2 VARIANTI CFTR (< 2 "CF CAUSING")**

**SCREENING NEONATALE POSITIVO +
TEST DEL SUDORE BORDERLINE (30-59 mEq/L) +
0-1-2 VARIANTI CFTR (< 2 "CF CAUSING")**

CRMS/CFSPID: principali casistiche

Table 1

Summary of recent studies of CRMS/CFSPID [from reference 2].

	Prospective studies		Retrospective studies				Registry study
	Ooi et al. [29]	Munck et al. [30]	Kharrazi et al. [31]	Groves et al. [32]	Levy et al. [33]	Terlizzi et al. [34]	Ren et al. [35]
Study design	Prospective case control	Prospective case control	Retrospective	Retrospective case control	Retrospective cross sectional	Retrospective	CFF registry
Country	Canada, Italy	France	USA California	Australia	US Wisconsin	Italy Tuscany	US
Birth period	2007–2013	2002–2009	2007–2012	1996–2010	1994–2012	2011–2016	2010–2012
Follow up duration (y)	Median 2.2	Mean 7.4	Mean 4.5	10	8	Median 0.6	1
Number CF	80	63	325	225	300	32	1540
Number CRMS/CFSPID	82	63	553	29 ^a	57	50	309
CF:CRMS/CFSPID	1.8:1	6.3:1	0.67:1	7.8:1	5.2:1	0.64:1	5:1
Conversion to CF, N (%)	9 (11)	28 (44)	20 (5.8)	14 (48) matched to CF	NA ^c	5 (10)	NA ^c
Increased SCC ≥ 60 mmol/L	2	8	17	2 ^b		5	
2 CF causing mutations	4	12	0	0		0	
Both criteria	3	8	0	0		0	
Other criteria	0	0	3	12		0	
Age at conversion (y)	Mean 1.8 \pm 1.2	Unknown	Mean 2.5 \pm 1.4	Median 0.19 (0.1–4.76)		Median 2 (0.2–4)	
Pseudomonas aeruginosa (%)	12	24	Unknown	78.6	39	25 ^d	10.7
Pancreatic insufficiency (%)	0	0	15	14	0	0	4.5
F508del/R117H (%)	19.5	43	Unknown	29	63	0	26

Follow up dei soggetti CRMS/CFSPID

	Initial assessment	6 months of age	12 months of age	2 years of age	3 years of age	4 years of age	5 years of age	6 years of age **
Diagnostic testing *								
→ Sweat chloride concentration	X	X	c	X	c	c	c	X
→ Extended <i>CFTR</i> analysis	X				c			c
→ Check for updates in clinical relevance of <i>cftr</i> variants at www.cftr2.org	X	X	X	X	X	X	X	X
→ Fecal elastase-1 measurement (stool assessment)	X	c	X	c	c	c	c	c
Care Management								
Inform GP/Paediatrician about CRMS/CFSPID (or change of diagnosis)	X	X	X	c	c	c	c	X
Provide explanations to parents on the follow-up (discuss the potential outcomes)	X	X	X	X	X	X	X	X
→ Genetic counselling	X							c
Respiratory assessment: history (cough, infections), including auscultation, RR	X	X	X	X	X	X	X	X
Abdominal assessment: history and examination	X	X	X	X	X	X	X	X
Nutritional assessment: weight, length/height, BMI centiles	X	X	X	X	X	X	X	X
→ Respiratory culture	c	c	c	c	c	c	c	c
Chest Imaging	c	c	c	c	c	c	c	X
MBW/LCI measurement								X
Spirometry								X
Educate about tobacco exposure avoidance	X	c	c	c	c	c	c	c

Quali opzioni dopo i 6 anni di vita?

There are three main options for further care after the assessment at 6 years of age:

- 1) Discharge from CF specialist care, with follow-up in primary care by their primary care physician.
- 2) Discharge from CF specialist care, but a further isolated specialist review as the child reaches adolescence (at the age of around 14–16 years, see below). This option gives the opportunity for more direct engagement with the young person.
- 3) Continue regular specialist review under the CRMS/CFSPID designation, either as part of the CF clinic or in a separate clinic (could be undertaken 'virtually' for example as an annual telephone call or video consultation).

A survey of the prevalence, management and outcome of infants with an inconclusive diagnosis following newborn bloodspot screening for cystic fibrosis (CRMS/CFSPID) in six Italian centres

Table 3
Clinical characteristics of CRMS/CFSPID subjects versus CF patients during follow up.

	Nr/total	CFSPID %	Nr/total	CF %	p [§]
A. Clinical symptoms					
Pancreatic sufficiency	277/277	100%	74/253	29.2%	<0.001
Pancreatitis	6/324	1.9%	5/250	2.0%	0.898
Pneumonia	19/325	5.8%	68/250	27.2%	<0.001
Metabolic hypochloremic alkalosis	5/324	1.5%	28/250	11.2%	<0.001
Sinusitis	1/322	0.3%	11/250	4.4%	0.001
Nasal polyps	0/323	0.0%	5/250	2.0%	0.011
Co-morbidity*	18/289	6.2%	43/250	17.7%	<0.001
B. Respiratory Infection					
Isolation of PA.	47/229	20.5%	134/251	53.4%	<0.001
Chronic PA.	0/219	0.0%	17/232	7.3%	<0.001
MSSA					<0.001
At least one isolation	84/229	36.7%	76/250	30.4%	0.009
Chronic MRSA	13/229	5.7%	73/250	29.2%	
At least one isolation	21/228	9.2%	43/249	17.3%	
Chronic MRSA	2/228	0.9%	7/249	2.8%	
C. Diagnostic tools performed					
Oropharyngeal swab	218/327	66.7%	253/253	100.0%	<0.001
Chest x-ray	171/327	52.3%	245/251	97.6%	<0.001
Atelectasis	1/171	0.6%	28/245	10.8%	<0.001
Pneumoniae	15/171	8.8%	51/245	20.8%	<0.001
Normal	155/171	90.6%	167/245	68.2%	<0.001
Lung CT scan	10/326	3.1%	35/249	14.1%	<0.001
D. Therapies					
Chest physiotherapy**	94/327	28.7%	248/252	98.4%	<0.001
Saline Supplementation	103/327	31.5%	246/253	97.2%	<0.001

336 CRMS/CFSPID (vs 257 CF)

Follow up medio: 3,3 anni

271 (80.7%) CRMS/CFSPID

18 (5.3%) FC

4 (1.2%) CFTR-RD

27 (8.0%) portatori sani

16 (4.8%) soggetti sani

Soggetti CRMS/CFSPID progrediti in FC

	<i>Age at CF diagnosis (months)</i>	<i>First mutation</i>	<i>Second mutation</i>	<i>Symptoms</i>	<i>Bacterial colonization</i>	<i>First sweat chloride value</i>	<i>Last sweat chloride value</i>
1	49	F508del	(TG)12T5	none	non chronic MSSA and HI	26	122
2	31	F508del	(TG)13T5	none	non chronic MSSA	31	122
3	43	S1455X	(TG)13T5	hypochloremic dehydration	non chronic MSSA	43	112
4	30	F508del	R117C*	pneumonia/pancreatitis	non chronic MSSA and PA	59	101
5	23	W1282X	R117H-7T	none	non chronic MSSA and PA	53	87
6	10	N1303K	R334L*	none	non chronic MSSA	35	85
7	15	N1303K	(TG)12T5	none	none	36	79
8	50	N1303K	(TG)12T5	none	non chronic HI	37	78
9	12	R334W	F1052V	none	none	21	74
10	21	F508del	(TG)12T5	none	non chronic HI	33	73
11	43	G524X	D1152H	none	non chronic MSSA, PA, HI	34	71
12	25	F508del	S737F°	none	non chronic MSSA and HI	51	69
13	5	G1244E	c,1584+18672	none	none	46	69
14	3	F508del	(TG)13T5	none	non chronic MSSA	53	65
15	23	F508del	(TG)12T5	none	non chronic MSSA, MRSA, HI	44	62
16	28	Q1476X	3272-26A>G	pneumonia/bronchiectasis	non chronic MSSA, PA	38	56.5
17	9	711+3A>G	R334L*	none	non chronic MSSA, HI	48	51
18	37	F508del	L997F	none	non chronic PA	26	60

Fattori predittivi di evoluzione



Primo test del sudore borderline
Genotipo: CF causing/MVCC

Pseudomonas aeruginosa?
Elevato valore di IRT?

A survey of the prevalence, management and outcome of infants with an inconclusive diagnosis following newborn bloodspot screening for cystic fibrosis (CRMS/CFSPID) in six Italian centres

Table 2
Allelic frequencies in CRMS/CFSPID and CF subjects.

	CRMS/CFSPID n (%)	CFn (%)
F508del	138 (20.5)	239 (46.5)
→ (TG)12T5 *	92 (13.7)	3 (0.6)
→ D1152H*	50 (7.4)	0
L997F*. [°]	33 (4.9)	0
N1303K	18 (2.7)	35 (6.8)
Complex alleles*	13 (1.9)	4 (0.8)
R117H-7T	11 (1.6)	0
2789+5G>A	9 (1.3)	15 (2.9)
(TG)11T5*	8 (1.2)	0
D1270N*	8 (1.2)	0
(TG)13T5*	7 (1.0)	0
G524X	7 (1.0)	22 (4.3)
W1282X	7 (1.0)	14 (2.7)
variants (n.7) **		47 (9.1)
variants (n.16) ***		57 (11)
variants (n. 59) \$		75 (14.6)
Variants (n.122) \$	182 (27.1)	
Unknown§	89 (13.2)	3 (0.6)
Total	672	514

CRMS/CFSPID Subjects Carrying D1152H CFTR Variant: Can the Second Variant Be a Predictor of Disease Development?

	Group A		Group B		
	N	%	N	%	p
A. Clinical symptoms					
Pancreatic sufficiency	28/28	100%	15/15	100%	
Pancreatitis	3/26	11.5%	0/15	0.0%	0.110
Metabolic hypochloremic alkalosis	1/26	3.8%	0/15	0.0%	0.442
B. Respiratory Infection					
Pseudomonas aeruginosa *	10/26	38.5	1/13	7.7%	0.044
MSSA	12/26 °	46.2%	6/13	46.2%	0.871
MRSA	3/26 ^	11.5%	2/13	15.4%	0.735
C. Pulmonary exacerbations					
N of antibiotic therapy in the first year	25	1.8	13	0.6	0.027
IQR 25–75		0–3		0–0	
D. Diagnostic tools performed					
Oropharyngeal swab	26/26	100.0%	13/15	86.7%	0.056
Chest X-ray	25/26	96.2%	7/15	46.7%	<0.001
E. Therapies					
Chest physiotherapy	18/26	69.2%	2/15	13.3%	0.001
Saline Supplementation	15/26	57.7%	3/15	20.0%	0.019

43 CRMS/CFSPID con almeno 1 D1152H:

1. Gruppo A (n.28): D1152H/CF causing
2. Gruppo B (n.15): D1152H/other

Dopo un follow medio di 3,3 anni



1/43 diagnosi di FC per TS > 60 mmol/l
3/43 CFTR-RD per pancreatite ricorrente

Tutti con genotipo D1152H/CF causing (14.2%)

CRMS/CFSPID con genotipo F508del/(TG)12T5

- Raccolta dati multicentrica (10 centri di riferimento regionale: Toscana, Lombardia, Liguria, Lazio, Marche, Campania, Basilicata)
- Dati clinici di 299 pazienti pediatrici e adulti con (TG)12T5
- Focus sui pazienti F508del/(TG)12T5 (n.129)

Prima valutazione:

30/129 (23.3%): FC
41/129 (31.7%): CFTR-RD
58/129 (45%): CRMS/CFSPID



Al termine del periodo di studio:

45/129 (34.9%): FC
35/129 (27.1%): CFTR-RD
49/129 (38%): CRMS/CFSPID

6/58 (10.3%) CRMS/CFSPID evolvono in FC per test del sudore patologico (n.5) o interessamento multiorgano (n.1)

3/58 (5.1%) CRMS/CFSPID presentano nel corso del follow up episodi di pancreatite acuta (CFTR-RD)

CRMS/CFSPID con genotipo CF causing (F508del)/ MVCC (D1152H-(TG)12T5) -----> maggiore rischio di evoluzione in FC o CFTR-RD

Pseudomonas aeruginosa in CRMS/CFSPID

43 CRMS/CFSPID con almeno 1 positività per Pseudomonas aeruginosa

OBIETTIVI:

1. Valutare il comportamento dei centri (trattamento vs non trattamento)
2. Valutare il ruolo di Pa come fattore predittivo di evoluzione in malattia

Soggetti trattati (variabili cicli di eradicazione): 24/43 (55.8%), 2 casi non eradicati

Soggetti non trattati: 19/43 (44.2%), 2 casi non eradicati

Al termine del periodo di studio (giugno 2021)
(follow up medio 6.2 anni, range 3-9.9)



8 (18.6%) ricevevano diagnosi di FC
2 (4.6%) CFTR-RD (pancreatiti o bronchiectasie)
33 (76.8%) CRMS/CFSPID, di cui 13 (39.4%) con successivo
nuovo riscontro di Pa al tampone faringeo
Nessun CRMS/CFSPID con Pa cronico

Follow up dei soggetti CRMS/CFSPID

	Initial assessment	6 months of age	12 months of age	2 years of age	3 years of age	4 years of age	5 years of age	6 years of age **
Diagnostic testing *								
Sweat chloride concentration	X	X	c	X	c	c	c	X
Extended <i>CFTR</i> analysis	X							c
Check for updates in clinical relevance of <i>cftr</i> variants at www.cftr2.org	X	X	X	X	X	X	X	X
Fecal elastase-1 measurement (stool assessment)	X	c	X	c	c	c	c	c
Care Management								
Inform GP/Paediatrician about CRMS/CFSPID (or change of diagnosis)	X	X	X	c	c	c	c	X
Provide explanations to parents on the follow-up (discuss the potential outcomes)	X	X	X	X	X	X	X	X
Genetic counselling	X							c
Respiratory assessment: history (cough, infections), including auscultation, RR	X	X	X	X	X	X	X	X
Abdominal assessment: history and examination	X	X	X	X	X	X	X	X
Nutritional assessment: weight, length/height, BMI centiles	X	X	X	X	X	X	X	X
Respiratory culture	c	c	c	c	c	c	c	c
Chest Imaging	c	c	c	c	c	c	c	X
MBW/LCI measurement								X
Spirometry								X
Educate about tobacco exposure avoidance	X	c	c	c	c	c	c	c

Timing del test del sudore: “real life” in Italia

Outcomes of early repeat sweat testing in infants with cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-related metabolic syndrome (CRMS)/CF screen-positive, inconclusive diagnosis (CFSPID)

Fase prospettica progetto FFC#30/2018: CRMS/CFSPID nati nel periodo 01.09.2018-31.12.2019

50 CRMS/CFSPID, età media 16 mesi

Valutazione outcomes al 30.06.2021: sequenziamento CFTR + ripetizione test del sudore (150 esami, range per paziente 1-7)

Al termine del follow up (8.5 mesi), 11 (22%) diagnosi definitive:

2 FC (genotipo CF causing/(TG)12T5)

8 portatori sani

1 soggetto sano

La ripetizione del test del sudore nel primo anno di vita può velocizzare la diagnosi finale in CRMS/CFSPID con TS borderline

CRMS/CFSPID: casi clinici

Silvia, attuali 2 anni

IRT 72, genetica primo livello: F508del in eterozigosi

Test del sudore: Cl 41-43 mEq/L (CRMS/CFSPID, consulenza genetica)

Post 1 mese, risultato sequenziamento CFTR: F508del in eterozigosi

Visita, tampone faringeo, elastasi fecale, terzo test del sudore: Cl 27 mEq/l

Post 6 mesi: visita, tampone faringeo, quarto test del sudore: Cl 23 mEq/L

Diagnosi: portatore sano, follow up terminato a 9 mesi

Andrea, attuali 3 anni

IRT 56, genetica primo livello F508del/UN

Test del sudore: 54-52 mEq/L (CRMS/CFSPID, consulenza genetica)

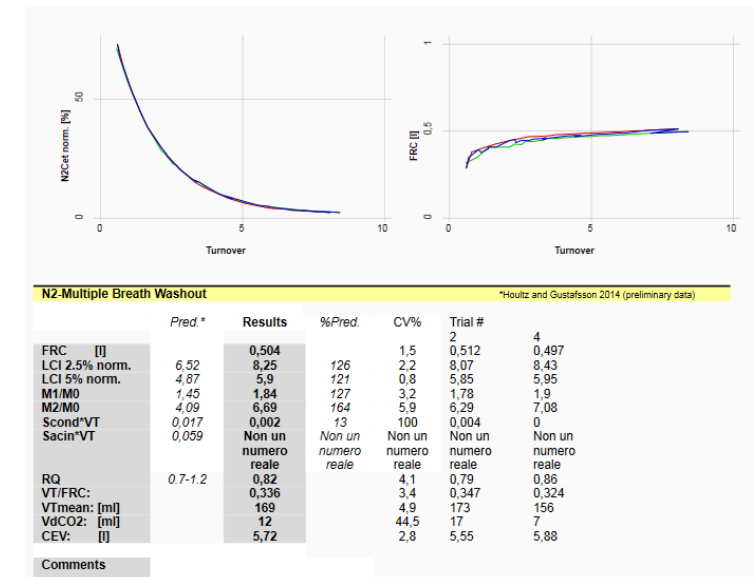
Post 1 mese, risultato sequenziamento CFTR: F508del/5T-TG13

Visita, tampone faringeo, elastasi fecale, terzo test del sudore: Cl 48 mEq/L

Follow up semestrale: visita, tampone faringeo, test del sudore: Cl 88-114 mEq/L

Diagnosi: FC, età 15 mesi, asintomatico

Prosegue follow up semestrale: visita, tampone; LCI (8.2), elastasi ogni anno, esami strumentali ogni 2 anni. Al momento nessuna terapia



CRMS/CFSPID: casi clinici

Giorgia, attuali 4 anni (fratello CRMS/CFSPID: F508del/H609L)

IRT 81, genetica primo livello: F508del in eterozigosi

Test del sudore: Cl 24-24 mEq/L, sequenziamento CFTR: F508del/H609L

Andamento test del sudore: Cl 25-45 44-56-34-43

Sufficienza pancreatica, asintomatica, P. aeruginosa al tampone faringeo

Follow up fino a 6 anni di età: se ancora asintomatica e test del sudore non patologico verrà affidata al pediatra curante con indicazione a contattare il centro in caso di sintomi sospetti (tosse > 2 settimane, dolori addominali, scarsa crescita, poliposi nasale, episodio di disidratazione)

Conclusioni

- La frequenza di CRMS/CFSPID è maggiore in Italia e variabile la gestione clinica nei diversi centri di cura.
- Il test del sudore rappresenta l'esame cardine per raggiungere una diagnosi definitiva e potrebbe essere utile ripeterlo più frequentemente nel primo anno di vita nei soggetti con iniziale cloro nel range borderline.
- Resta la difficoltà di gestione dei soggetti con 2 varianti CFTR poco note e test del sudore nella norma (revisionare CFTR2).
- Soggetti asintomatici non FC causing/MVCC e assenza di batteri patogeni potrebbero essere affidati al pediatra curante all'età di 6 anni con indicazione a contattare il centro in caso di sintomi/segni sospetti.
- I soggetti con profilo genetico FC causing/MVCC dovrebbero essere i "sorvegliati speciali" e probabilmente meritano un follow up a lungo termine (annuale per bambini > 6 anni?)

Ringraziamenti

Centro FC Milano

Prof.ssa Colombo

Dott.ssa Claut

Dott.ssa Moroni

Centro FC Napoli:

Prof.ssa Raia

Dott.ssa Tosco

Dott.ssa Castaldo

Dott.ssa Polizzi

Centro FC Brescia

Dott.ssa Padoan

Dott.ssa Timpano

Dr Poli

Dott.ssa Tradati

Centro FC Roma

Dr Cimino

Dipartimento di Medicina Sperimentale Sapienza Università Roma

Prof Lucarelli

Centro screening neonatale Regione Lazio

Prof Angeloni

Prof.ssa Carducci

Centro FC Ancona:

Dott.ssa Fabrizzi

Dott.ssa Caporelli

Dott.ssa Cirilli

Dott.ssa Giust

Centro FC Firenze

Dr Taccetti

Dott.ssa Dolce

Dott.ssa Francalanci

Dott.ssa Teodori

Dott.ssa Marino

Lucia Zavataro (monitor)

Pietro Piccinini (monitor)

Paolo Bonomi (statistico)

Fondazione Ricerca FC

Delegazione FFC Siena

Delegazione FFC Monterotondo Roma

Delegazione FFC Olbia

Delegazione FFC Acqui Terme